

Japanese Unexamined Patent Publication No. 8-332082

[0044]

[Example 2] Using zinc sulfate ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), two solutions were prepared so that zinc ion concentration in one of the solutions was 5,000 ppm and zinc ion concentration in another of the solutions was 10,000 ppm. 300 grams of baker's yeast (regular yeast made by ORIENTAL YEAST CO., LTD.) was suspended to 1.5 liters of each solution ( $2 \times 10^9$  / ml). Each suspended solution was agitated at aeration 2.0 vvm and 650 rpm at 30 degrees C for 120 hours in 3-liter jar fermenter.

[0045] After the agitation for the predetermined time, bacterial cell was harvested by centrifugal separation ( $3,000 \times g$ , 5 minutes) and was lavaged twice by ion exchanged water (MilliQ). The bacterial cell was become wet ashing and the determination of zinc was carried out by atomic absorption spectrophotometer. Also, the colorimetry of residual zinc content in liquid obtained by mixing supernatant fluid after the harvest of bacterial cell and lavage fluid was carried out by zinc-xylene orange complex salt method. The obtained result is shown in FIG. 1.

[FIG. 1]

A: Zinc concentration in dried bacterial cell

B: Processing time (h)

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-332082

(43)Date of publication of application : 17.12.1996

(51)Int.Cl.

C12N 1/16

C12N 1/18

(21)Application number : 07-164507

(71)Applicant : ORIENTAL YEAST CO LTD

(22)Date of filing : 08.06.1995

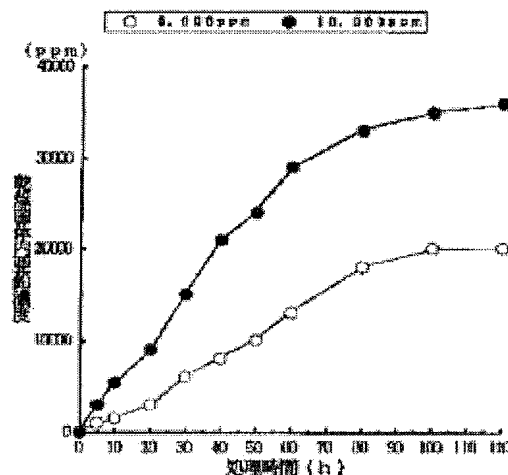
(72)Inventor : ANDO MASAYASU  
NAKAJIMA RYOICHI  
ICHIGEN SETSU

## (54) YEAST CONTAINING ZINC AT HIGH CONCENTRATION

## (57)Abstract:

**PURPOSE:** To obtain the subject yeast, capable of perorally and reasonably ingesting a large amount of zinc and useful for foods, feeds, baits, etc., by culturing a yeast in a suspended state in a solution containing a specific amount or more of zinc in a nonproliferating manner according to the spinner or shaking culture.

**CONSTITUTION:** This yeast contains zinc at a high concentration. The yeast is obtained by using zinc sulfate, preparing an aqueous solution containing  $\geq 50$ ppm zinc, adding and suspending a yeast such as a baker's yeast therein, stirring and/or shaking the suspension at 30° C for 72hr under aerobic conditions in a nonproliferating manner, then collecting the yeast fungal cell in the suspended state by centrifugation and washing the collected yeast fungal cell with ion exchange water. The resultant yeast contains  $\geq 600$ ppm, preferably  $\geq 10000$ ppm zinc based on the dry fungal cell and capable of perorally and reasonably ingesting a large amount of the zinc and useful for producing various foods such as bread, biscuits or miso. The cell wall of the resultant yeast is destroyed to take out the contents, which are used to afford foods and drinks such as a juice, an ice cream or a cracker, feeds, baits, etc. containing a large amount of the zinc.



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-332082

(43) 公開日 平成 8 年 (1996) 12 月 17 日

| (51) Int.Cl. <sup>6</sup> | 識別記号 | 庁内整理番号  | F I          | 技術表示箇所 |
|---------------------------|------|---------|--------------|--------|
| C 1 2 N 1/16              |      | 7804-4B | C 1 2 N 1/16 | J      |
| 1/18                      |      | 7804-4B | 1/18         |        |

審査請求 未請求 請求項の数 9 F D (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平7-164507

(22) 出願日 平成 7 年 (1995) 6 月 8 日

(71) 出願人 000103840

オリエンタル酵母工業株式会社  
東京都板橋区小豆沢 3 丁目 6 番 10 号

(72) 発明者 安藤 正康

東京都板橋区大山西町 31-2

(72) 発明者 中島 亮一

東京都板橋区本町 35-15

(72) 発明者 一言 摂

東京都世田谷区野沢 3-2-8-506

(74) 代理人 弁理士 戸田 親男

(54) 【発明の名称】 亜鉛高含有酵母

(57) 【要約】

【構成】 亜鉛を 50 p p m 以上含有する溶液中で、酵母を懸濁状態で非増殖的に攪拌及び／又は振とう処理する。

【効果】 乾燥菌体当たり亜鉛を 10, 000 p p m 以上含有する亜鉛高含有酵母が得られる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 亜鉛を高濃度に含有してなる食用酵母。

【請求項 2】 亜鉛を乾燥菌体当たり 600 ppm 以上、好ましくは 10,000 ppm 以上含有してなる食用酵母。

【請求項 3】 亜鉛を 50 ppm 以上含有する溶液中で、酵母を懸濁状態で非増殖的に攪拌及び／又は振とうすること、を特徴とする請求項 1 又は 2 に記載の食用酵母を製造する方法。

【請求項 4】 好気的条件下で攪拌及び／又は振とうすること、を特徴とする請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】 酵母としてミネラルを高濃度に含有してなる酵母を使用すること、を特徴とする請求項 3 又は 4 に記載の方法。

【請求項 6】 ミネラルがマグネシウム及び／又は鉄であること、を特徴とする請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】 鉄を 2,000 ppm 以上含有する溶液中で、請求項 1 又は 2 に記載の酵母を懸濁状態でゆっくりと攪拌及び／又は振とうすること、を特徴とする亜鉛及び鉄を多量に含有する食用酵母の製造方法。

【請求項 8】 マグネシウムを 50 ppm 以上含有する培地または溶液中で、酵母を懸濁状態で攪拌及び／又は振とうした後、集菌、洗浄して得られた酵母を使用することにより、請求項 3 又は 4 に記載の方法で製造されること、を特徴とするマグネシウム及び亜鉛を多量に含有する食用酵母の製造方法。

【請求項 9】 請求項 8 に記載の方法で製造されるマグネシウム及び亜鉛を多量に含有する酵母を請求項 7 に記載の方法で製造されること、を特徴とするマグネシウム、亜鉛及び鉄を多量に含有する食用酵母の製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ミネラル、特に亜鉛を高濃度に含有する食用酵母及びその製造方法に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】亜鉛は、生体内の約 200 種類の酵素において、補酵素としての役割を持っていることがわかっている。したがって、新しい細胞の形成や成長との関係が深いこともよく知られている。また、味覚障害の改善効果、生殖機能の向上あるいは改善効果等もあることが明らかになるにつれて、生命の基本的な役割を担うミネラルとしての亜鉛が注目されているところであるが、その摂取量は必ずしも十分なものでなく、また、その摂取バランスも適切とは言えない状況にある。

【0003】このような亜鉛の摂取量を確保する場合、あるいは適切な摂取バランスを維持していくためには、必要量の亜鉛を通常の飲食品から摂取しなければならぬが、通常の飲食品中の亜鉛含有量が低いため、相当な困難を伴うものである。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、大量の亜鉛を経口的に無理なく摂取するための新しいシステムを開発する目的でなされたものである。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】本発明は、上記目的を達成するためになされたものであって、従来のように亜鉛含有量の比較的高い食品素材を利用した食品を利用するシステムについて、発想を根本的に転換して、食用微生物に亜鉛を多量に摂取蓄積せしめ、この亜鉛高含有微生物を利用することにより、いわば微生物中の亜鉛を摂取するシステムに着目した。

【0006】そして各種の食用用途に広く利用されている酵母に着目して亜鉛塩含有培地で酵母を培養したけれども、亜鉛塩の添加量を高くすると、従来からの技術常識どおり、酵母の増殖阻害がひき起こされ、亜鉛を高濃度に含有する酵母を得ることはできなかった。

【0007】しかしながら本発明者らは、このような技術常識に取立て挑戦し、亜鉛を従来なし得なかった程度の高濃度に含有する新規酵母を創製するという新規課題を敢えて設定した。そこで各方面から検討の結果、酵母を栄養培地で培養するのではなく、亜鉛高濃度含有液中で非増殖的に酵母を好気的に攪拌したところ、全く予期せざることに、酵母菌体中に大量に亜鉛が取り込まれるという新知見を得た。しかも、従来の技術常識に反して、亜鉛濃度を高めても酵母が死滅することはなく、溶液中の亜鉛濃度に応じて酵母菌体中の亜鉛含量も増加し、乾燥菌体当たり 10,000 ppm 以上に達することを確認した。このように高濃度に亜鉛を含有した酵母は従来全く創製し得ないとされていたものである。

【0008】本発明は、このような有用新知見を基礎とし、更に研究の結果、完成されたものであって、その詳細は以下に述べるとおりである。

【0009】本発明を実施するには、亜鉛の水溶性塩を多量に含有する高濃度亜鉛含有液中で酵母を懸濁せしめ、非増殖的に攪拌及び／又は振とうすることが必要である。本発明においては、酵母を培養するための培地を使用するものではなく、非増殖的に処理するものである。つまり、菌体の増殖に必要な物質が実質的に存在しない条件下で、酵母を処理するのである。

【0010】本発明において使用する亜鉛塩としては、適度な水溶性を有し、且つ酵母を死滅させるものではなく、酵母菌体内に効率的に取り込まれるものであれば、有機、無機を問わずすべての亜鉛化合物が 1 種又はそれ以上使用可能である。その非限定例としては次のものが挙げられる：硫酸亜鉛、塩化亜鉛、クエン酸亜鉛、酢酸亜鉛、酒石酸亜鉛、乳酸亜鉛。

【0011】亜鉛塩の添加量は、50 ppm でも良い結果が得られるがそれよりも高濃度、2,000 ppm 以上、特に好ましくは 3,000～6,000 ppm とす

るのが好適である。従来の技術常識からすれば、高濃度の亜鉛で酵母を処理すれば、酵母は死滅したり、あるいは死滅しないまでも重大な悪影響が十分に懸念されるところではあるが、このような技術常識を本発明は大幅に超越したものであって、全く予期せざることに、このような高濃度の亜鉛によっても酵母が死滅しないどころか、それを大量に菌体内に取り込ませることに初めて成功したものである。しかも更に 10,000 ppm 以上の高濃度の亜鉛での処理も可能であることも確認している。

【0012】その結果、乾燥菌体当たり 600~10,000 ppm 以上の亜鉛を酵母菌体内に取り込ませることに遂に成功したのである。このように大量の亜鉛を含有する酵母は、従来存在せず、また、既述したように創製しようとしても創製できなかった新規有用酵母である。更に驚異的なことに、本発明によれば、10,000 ppm の亜鉛溶液を使用することにより、乾燥菌体当たり 30,000 ppm 以上ものきわめて大量の亜鉛を酵母菌体内に取り込ませることすら可能である。

【0013】亜鉛を酵母菌体内に取り込ませるための処理条件としては、亜鉛溶液中に酵母を懸濁して、4~40℃、好ましくは 20~35℃ の温度、1~120 時間、好ましくは 40~100 時間、pH 4~7、好ましくは pH 4.5~6.5 とするが、使用する酵母、亜鉛塩の種類や濃度に応じて適宜定め、場合によっては上記範囲外であってもよい。

【0014】攪拌及び／又は振とうは、亜鉛溶液の粘度や酵母の含有量にもよるが、500~1,000 rpm 程度の攪拌、ないしは、振幅 12 cm の場合、100~200 rpm の振とうとするのがよい。そして更に通気を行う等、好気的な条件にて行くと良好な結果が得られる。通気は 0.5~5 vvm 程度で行うが、必要ある場合はこの範囲を逸脱しても差し支えない。

【0015】本発明においては、酵母であれば食用酵母を含めいかなる酵母も使用することができる。その非限定例としては、次の各属に属する酵母が挙げられる：サッカロミセス (*Saccharomyces*) 属、トルロプシス (*Torulopsis*) 属、ミコトルラ (*Mycotorula*) 属、トルラスポラ (*Torulaspora*) 属、キャンディダ (*Candida*) 属、ロードトルラ (*Rhodotorula*) 属、ピキア (*Pichia*) 属その他。

【0016】具体的には、*Saccharomyces cerevisiae*、*torulopsis utilis*、*Candida utilis*、*Mycotorula japonica*、*Torulaspora delbrueckii*、*Candida sake*、*Candida tropicalis*、*Candida utilis* ATCC 16321; *Hansenula anomala* IFO 0140、*Saccharomycopsis fibuligera* IFO 1665、*Torulaspora delbrueckii* ATCC 20182; *Rhodotorula rubra* IFO 0870; *Pichia farinosa* IFO 0607、その他の酵母が例示される。

【0017】また、これらの酵母の内、特に食用酵母として、ヒトの飲食、動物の飼料、魚類の餌料に多用される酵母としては、*Saccharomyces cerevisiae*、*torulopsis utilis*、*Candida utilis*、*Mycotorula japonica*、*Torulaspora delbrueckii*、*Candida sake*、*Candida tropicalis*、*Candida utilis* ATCC 16321; *Hansenula anomala* IFO 0140、*Saccharomycopsis fibuligera* IFO 1665、*Torulaspora delbrueckii* ATCC 20182; *Rhodotorula rubra* IFO 0870; *Pichia farinosa* IFO 0607、その他の酵母が例示される。

【0018】酵母を懸濁させる液体としては、水を用いるのが通常である。水は、蒸留水や脱イオン水でもよいが、水道水で充分である。酵母菌体濃度は、例えば圧搾酵母として 10~40%、好ましくは 15~25% であるが、効率よく亜鉛を取り込むよう適宜選択する。

【0019】このようにして亜鉛を取り込んだ酵母は、遠心分離、濾過等によって集菌した後、洗浄して目的の菌体を得、必要があれば凍結乾燥その他常法にしたがって乾燥菌体とし、各種の用途に使用する。また、希望するのであれば、菌体を破碎ないし菌体を溶菌して内容物を取り出し、これを利用することも可能である。

【0020】また、本発明においては、各種ミネラルをあらかじめ多量に含有せしめておいた酵母を、上記した通常の酵母の場合と同様に、亜鉛を 50 ppm 以上含有する溶液中で非増殖的に攪拌及び／又は振とうすることにより、各種のミネラルに更に亜鉛を高濃度に含有する新規なマルチミネラル高含有酵母を創製することができる。また、これとは逆の方法も可能である。

【0021】マルチミネラル高含有酵母としては、亜鉛・鉄高含有酵母、マグネシウム・亜鉛高含有酵母、マグネシウム・亜鉛・鉄高含有酵母等が例示される。

【0022】亜鉛・鉄高含有酵母は、本発明に係る上記した亜鉛高含有酵母製造条件で、あらかじめ製造しておいた亜鉛高含有酵母を原料酵母とし、鉄高含有酵母製造条件で鉄を酵母に取り込ませる方法により製造することができる。

【0023】鉄高含有酵母製造条件は、鉄イオンを 2,000 ppm 以上含有する溶液中で、酵母を懸濁状態にし、酵母が沈降しない程度に非増殖的にゆっくり攪拌及び／又は振とうする方法である。

【0024】本方法を実施するには、鉄の水溶性塩を多量に含有する高濃度鉄含有液中で酵母を懸濁せしめ、非増殖的にゆっくりと酵母が沈降しない程度に攪拌及び／又は振とうすることが必要である。本方法においては、酵母を培養するための培地を使用するものではなく、非増殖的に処理するものである。つまり、菌体の増殖に必要な物質が実質的に存在しない条件下で、酵母を処理するのである。

【0025】本方法において使用する鉄塩としては、適度な水溶性を有し、且つ酵母を死滅させるものではなく、酵母菌体内に効率的に取り込まれるものであれば、有機、無機を問わずすべての鉄化合物が 1 種又はそれ以上使用可能である。その非限定例としては次のものが挙

10

20

30

40

50

げられる：硫酸第一鉄、塩化第一鉄、クエン酸第一鉄、フマル酸第一鉄、グルコン酸第一鉄、酢酸第一鉄、酒石酸第一鉄、乳酸第一鉄。

【0026】鉄塩の添加量は、1,500ppmよりも高濃度とし、2,000ppm以上とするのが好適である。2,000ppmもの高濃度の鉄で酵母を処理すれば、酵母は死滅したり、あるいは死滅しないまでも重大な悪影響が十分に懸念されるところではあるが、このような技術常識を本発明は大幅に超越したものであり、全く予期せざることに、このような高濃度の鉄によっても酵母が死滅しないどころか、それを大量に菌体内に取り込ませることができる。しかも更に10,000ppmもの高濃度の鉄での処理も可能であることも確認している。

【0027】その結果、乾燥菌体当たり15,000ppm以上の鉄を酵母菌体内に取り込ませることがはじめて可能となったのである。更に驚異的なことに、本発明によれば、10,000ppmの鉄溶液を使用することにより、30,000ppm以上ものきわめて大量の鉄を酵母菌体内に取り込ませることすら可能である。

【0028】鉄を酵母菌体内に取り込ませるための処理条件としては、鉄溶液中に酵母を懸濁して、4~40℃、好ましくは20~35℃の温度、0.5~72時間、好ましくは1~36時間、pH4~7、好ましくはpH4.5~6.5とするが、使用する酵母、鉄塩の種類や濃度に応じて適宜定め、場合によっては上記範囲外であってもよい。

【0029】攪拌及び／又は振とうは、酵母と鉄イオンが接触するだけのゆっくりした速度で行う必要があり、鉄溶液の粘度や酵母の含有量にもよるが、500rpm以下、好ましくは500rpm以下のゆるやかな攪拌、ないしは、振幅12cmの場合、200rpm以下、好ましくは150rpm以下程度の振とうとするのが良い。

【0030】上記のようにして、亜鉛・鉄高含有酵母を製造することができる。その結果、乾燥菌体当たり亜鉛を10,000ppm、鉄を15,000ppmあるいはそれ以上含有する新規マルチミネラル食用酵母を得ることができる。

【0031】マグネシウム・亜鉛酵母を製造するには、あらかじめ製造しておいたマグネシウム高含有酵母を原料酵母とし、本発明に係る上記した亜鉛高含有酵母製造条件で亜鉛を酵母に取り込ませる処理により製造することができる。

【0032】マグネシウム高含有酵母は、マグネシウム高含有酵母製造条件、つまり、マグネシウムを高濃度に含有する溶液中で、酵母を懸濁状態で非増殖的に攪拌及び／又は振とうすることにより製造することができる。

【0033】本方法を実施するには、マグネシウムの水溶性塩を多量に含有する高濃度マグネシウム含有溶液中

で酵母を懸濁せしめ、好氣的に攪拌及び／又は振とうすることが必要である。本方法においては、最終的に創製される酵母菌体内のマグネシウム濃度は、酵母を培養するための培地組成の如何にかかわらず、酵母を懸濁せしめた溶液中のマグネシウム濃度に依存している。つまり、菌体の増殖に必要な物質が存在する条件下であっても、また実質的に存在しない条件下であっても酵母にマグネシウムを取り込ませることは可能である。

【0034】本方法において使用するマグネシウム塩としては、適度な水溶性を有し、且つ酵母を死滅させるものではなく、酵母菌体内に効率的に取り込まれるものであれば、有機、無機を問わずすべてのマグネシウム化合物が1種又はそれ以上使用可能である。その非限定例としては次のものが挙げられる：硫酸マグネシウム、塩化マグネシウム、クエン酸マグネシウム、酢酸マグネシウム、酒石酸第一マグネシウム、乳酸第一マグネシウム。

【0035】マグネシウム塩の添加量は、液中のマグネシウム濃度が50ppm以上となるように設定するのが好適である。このように高濃度のマグネシウムで酵母を処理すれば、酵母は死滅したり、あるいは死滅しないまでも、活性低下等の重大な悪影響が十分に懸念されるところではあるが、このような技術常識を本方法は大幅に超越したものであり、全く予期せざることに、このような高濃度のマグネシウムによっても酵母は死滅しないどころか、極めて高濃度のマグネシウムを菌体内に蓄積することができるとともに、酵母の生理活性はほとんど低下しないという有用な新知見を得た。

【0036】その結果、乾燥菌体当たり2,000ppm以上のマグネシウムを酵母菌体内に取り込ませることに遂に成功したのである。更に驚異的なことに、本方法によれば20,000ppmのマグネシウムイオン含有溶液を使用することにより、乾燥菌体当たり20,000ppm以上もの極めて大量のマグネシウムを酵母菌体内に取り込ませることすら可能である。

【0037】本方法にしたがってマグネシウムを酵母菌体内に多量に含有せしめるには、マグネシウム溶液中に湿菌体として5~30%、好ましくは10~20%の酵母を懸濁して、15~40℃、好ましくは25~35℃、更に好ましくは28~33℃の温度、1~120時間、好ましくは36~96時間の処理時間、pH4~7、好ましくはpH4.5~6.0、通気は0~5vvm、好ましくは1~3vvm、攪拌は使用する設備の規模によっても異なるが50~1,000rpm、振とうする場合は振幅12cmの設備では100~200rpm、好ましくは100~150rpmとするが、使用する酵母、マグネシウム塩の種類やその濃度に応じて適宜選択することができ、必要によっては上記の範囲を逸脱する場合もある。

【0038】上記のようにして、マグネシウム・亜鉛高含有酵母を製造することができる。その結果、乾燥菌体

10

20

30

40

50

当たりマグネシウムを2,000ppm、亜鉛を10,000ppmあるいはそれ以上含有する新規マルチミネラル食用酵母を得ることができる。

【0039】このようにして製造したマグネシウム・亜鉛高含有酵母を原料として、更に、先に記載した鉄高含有酵母製造条件で処理を行い、鉄を高濃度に含有させることにより、マグネシウム・亜鉛・鉄高含有酵母を創製することができる。その結果、乾燥菌体当たりマグネシウムを2,000ppm、亜鉛を10,000ppm、鉄を15,000ppmあるいはそれ以上含有する新規

10 マルチミネラル食用酵母を得ることができる。

【0040】以下に、本発明の実施例を記述する。

【0041】

【実施例1】硫酸亜鉛( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ )を用い、亜鉛イオンが溶液中に50~10,000ppmとなる\*

| 溶液中の亜鉛濃度 | 乾燥菌体中の亜鉛濃度 | 亜鉛利用率 |
|----------|------------|-------|
| 50ppm    | 610ppm     | 79.6% |
| 100      | 1,400      | 90.6  |
| 500      | 6,770      | 87.7  |
| 1,000    | 7,490      | 48.6  |
| 5,000    | 12,900     | 16.7  |
| 10,000   | 8,900      | 5.8   |

【0044】

【実施例2】硫酸亜鉛( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ )を用い、亜鉛イオンが溶液中に5,000ppm及び10,000ppmとなるように、溶液を調製し、この各亜鉛溶液1.5Lにパン酵母(オリエンタル酵母工業(株)製レギュラーイースト)300g( $2 \times 10^9$ 個/ml)を懸濁し、3L容ジャーファーマンターにて、30℃で120時間、通気2.0vvm、650rpmで攪拌した。

【0045】所定時間攪拌した後、菌体を遠心分離(3,000×g、5分)により集菌し、イオン交換水(MilliQ)で2回洗浄した後、菌体を湿式灰化し、原子吸光分光光度計により亜鉛を定量した。また、菌体集菌後の上澄液及び洗浄液を合わせた液中の残存亜鉛量は、亜鉛-キシレノールオレンジ錯塩法により比色定量した。得られた結果を図1に示す。

【0046】

【実施例3】硫酸マグネシウム( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )を用い、マグネシウムイオンが溶液中15,000ppmとなるように、溶液を調製し、このマグネシウム溶液1.5Lにパン酵母(オリエンタル酵母工業(株)製レギュラーイースト)300g( $2 \times 10^9$ 個/ml)を懸濁し、3L容ジャーファーマンターにて、通気2.0

\*ように、溶液を調製し(下記表1)、各濃度の亜鉛溶液100mlにパン酵母(オリエンタル酵母工業(株)製レギュラーイースト)20g( $2 \times 10^9$ 個/ml)を懸濁し、500ml容坂口フラスコにて、30℃で72時間振とう(振幅12cm、110rpm)した。

【0042】振とう後の菌体を遠心分離(3,000×g、5分)により集菌し、イオン交換水(MilliQ)で2回洗浄した後、菌体を湿式灰化し、原子吸光分光光度計により亜鉛を定量した。また、菌体集菌後の上澄液及び洗浄液を合わせた液中の残存亜鉛量は、亜鉛-キシレノールオレンジ錯塩法により比色定量した。得られた結果を下記表1に示す。

【0043】

【表1】

vvm、650rpmで攪拌し、30℃で72時間、非増殖条件下で処理を行った。

【0047】所定時間通気・攪拌した後、菌体を遠心分離(3,000×g、5分)により集菌し、イオン交換水(MilliQ)で2回洗浄した後、菌体を湿式灰化し、原子吸光分光光度計により、マグネシウムを定量した結果、乾燥菌体当たり7,830ppmのマグネシウムが含有されていた。

【0048】このようにして得られたマグネシウム高含有酵母を原料酵母とし、硫酸亜鉛( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ )を用い、亜鉛イオンが溶液中に5,000ppmとなるように、溶液を調製し、この亜鉛溶液1.5Lにマグネシウム高含有酵母300g( $2 \times 10^9$ 個/ml)を懸濁し、3L容ジャーファーマンターにて、通気2.0vvm、650rpmで攪拌し、30℃で72時間、非増殖条件下で処理を行った。

【0049】所定時間通気・攪拌した後、菌体を遠心分離(3,000×g、5分)により集菌し、イオン交換水(MilliQ)で2回洗浄した後、菌体を湿式灰化し、原子吸光分光光度計により、マグネシウム及び亜鉛を定量した結果を表2に示す。

【0050】

【表2】

|      | 乾燥菌体中のミネラル濃度 (ppm) |        |
|------|--------------------|--------|
|      | 亜鉛                 | マグネシウム |
| 原料酵母 | 45                 | 7,830  |
| 処理酵母 | 11,300             | 6,570  |

## 【0051】

【実施例4】硫酸亜鉛 ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) を用い、亜鉛イオンが溶液中に 5,000ppm となるように、溶液を調製し、この各亜鉛溶液 1.5L にパン酵母 (オリエンタル酵母工業 (株) 製レギュラーイースト) 300g ( $2 \times 10^9$  個/ml) を懸濁し、3L 容ジャーファーマンターにて、30℃で 72 時間、通気 2.0vvm、650rpm で攪拌した。

【0052】所定時間攪拌した後、菌体を遠心分離 (3,000×g、5分) により集菌し、イオン交換水 (MilliQ) で 2 回洗浄した後、菌体を湿式灰化し、原子吸光分光光度計により亜鉛を定量した。この亜鉛高含有酵母を原料酵母として、硫酸第一鉄 ( $FeSO_4$ )

を用い、二価の鉄イオンが溶液中に 5,000ppm となるように、溶液を調製し、この鉄溶液 1.5L にあらかじめ調製した亜鉛を高濃度に含有した原料酵母 300g ( $2 \times 10^9$  個/ml) を懸濁し、3L 容ジャーファーマンターにて、30℃で 24 時間、酵母が沈降しない程度の 200rpm でゆるやかに攪拌した。

【0053】所定時間攪拌した後、菌体を遠心分離 (3,000×g、5分) により集菌し、イオン交換水 (MilliQ) で 2 回洗浄した後、菌体を湿式灰化し、原子吸光分光光度計により鉄及び亜鉛を定量した。得られた結果を表 3 に示す。

## 【0054】

【表3】

|      | 乾燥菌体中のミネラル濃度 (ppm) |        |
|------|--------------------|--------|
|      | 亜鉛                 | 鉄      |
| 原料酵母 | 14,750             | 40     |
| 処理酵母 | 13,100             | 16,700 |

## 【0055】

【実施例5】実施例3に記載の条件で得られたマグネシウム・亜鉛高含有酵母を原料酵母として、硫酸第一鉄 ( $FeSO_4$ ) を用い、二価の鉄イオンが溶液中に 5,000ppm となるように、溶液を調製し、この鉄溶液 1.5L にあらかじめ調製したマグネシウム及び亜鉛を高濃度に含有した原料酵母 300g ( $2 \times 10^9$  個/ml) を懸濁し、3L 容ジャーファーマンターにて、30℃で 24 時間、酵母が沈降しない程度の 200rpm で※

※ゆるやかに攪拌した。

【0056】所定時間攪拌した後、菌体を遠心分離 (3,000×g、5分) により集菌し、イオン交換水 (MilliQ) で 2 回洗浄した後、菌体を湿式灰化し、原子吸光分光光度計によりマグネシウム、亜鉛及び鉄を定量した。得られた結果を表 4 に示す。

## 【0057】

【表4】

|      | 乾燥菌体中のミネラル濃度 (ppm) |        |        |
|------|--------------------|--------|--------|
|      | 鉄                  | マグネシウム | 亜鉛     |
| 原料酵母 | 40                 | 6,570  | 11,300 |
| 処理酵母 | 15,100             | 5,290  | 10,600 |

## 【0058】

【発明の効果】本発明によって、乾燥菌体当たり 10,000ppm 以上という大量の亜鉛を酵母に含有せしめることがはじめて可能となった。このように大量の亜鉛を含有した酵母は、従来得ることができず、全く新規な酵母である。

【0059】本発明によって創製された亜鉛高含有酵母は、各種の用途に広く利用することができ、亜鉛を大量に含有したパン、ビスケット、味噌等各種の食品を得ることができる。また、酵母の細胞壁を破壊し、内容物を取り出し、これを用いてジュース、アイスクリーム、クラッカー等各種の飲食品の製造にも利用することができるし、亜鉛を多量に含む飼料や餌料も製造することがで

きる。

【0060】また本発明においては、酵母を培養するという従来のシステムを採用せず、亜鉛塩の高濃度水溶液中で酵母を攪拌するという全く新しいシステムを採用している。そのため、培地を必要としないことにより、コストの低減化が図られるのみでなく、単に亜鉛塩の水溶液であるために酵母菌体の集菌後の洗浄も極めて簡単で済み、菌体の分離、精製も極めて容易に実施することができる。

【0061】また更に本発明によれば、亜鉛のほかに各種のミネラルも大量に酵母に含有せしめることが可能となったので、亜鉛のほかに更に例えば鉄及び／又はマグネシウムといったミネラルを高濃度に含有した新規酵母



(マルチミネラル高含有酵母)も創製可能となり、各種の用途に使用することができる。

【図面の簡単な説明】

\*

\*【図1】乾燥酵母菌体内亜鉛濃度に及ぼす液中の亜鉛濃度と処理時間との関係を示す。

